

## 慢性膵炎の膵液 IgA に関する研究

平 根 敏 光

札幌医科大学内科学第1講座 (主任 谷内 昭 教授)

### Studies on IgA in the Pancreatic Juice of Patients with Chronic Pancreatitis

Toshimitsu HIRANE

Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College

(Chief : Prof. A. YACHI)

**ABSTRACT** The pancreatic juice of patients with chronic pancreatitis was obtained by cannulation into the pancreatic duct via endoscope, without contamination of the bile acids. In an attempt to elucidate the transport mechanism of IgA into pancreatic juice, molecular forms of pancreatic juice IgA were studied with high speed liquid chromatography and enzyme immunoassay. In addition, the clinical significance of pancreatic juice IgA, especially IgA type lipopolysaccharide (LPS) antibody, was investigated.

1. Immunoglobulins (Ig) were detected in the pancreatic juice of patients with chronic pancreatitis. The concentration of IgA, IgG and IgM were  $1.06 \mu\text{g/ml}$ ,  $0.50 \mu\text{g/ml}$  and  $0.30 \mu\text{g/ml}$ , respectively. Thus IgA was a predominant Ig class in pancreatic juice. The concentration ratio of each Ig (IgA : IgG : IgM =  $2.1 : 1.0 : 0.6$ ) was different from that of saliva, gastric juice and bile.

2. Fifty-five percent of pancreatic juice IgA was polymeric IgA and 60% of polymeric IgA was secretory IgA, which possessed a secretory component in the IgA molecule.

3. Secretory component and IgA were localized in the apical portion of pancreatic ductal epithelial cells. These observations indicated that IgA was actively transported into the pancreatic duct in a secretory form, containing both secretory component and IgA.

4. The titer of IgA type LPS antibody was elevated in the pancreatic juice of patients with relapsing pancreatitis and concomitant biliary infection. This elevation suggests that the local IgA immune response to LPS was activated by the aggravation of pancreatitis. The titer of IgA type LPS antibody was also elevated in the sera of these patients. These measurements may be used for monitoring the activity of pancreatitis. (Received January 30, 1992 and accepted February 19, 1992)

**Key words :** Pancreatitis, Pancreatic juice, Secretory IgA

#### 1 緒 言

ヒトの粘膜免疫系では、IgA が重要な役割を担っており、涙、唾液、乳汁、尿などの外分泌液中の主要な免疫グロブリン(Ig)として、防御機能を営んでいる<sup>1-4)</sup>。

われわれの教室においては、これまで消化管の IgA 系について胃液 IgA、胆汁 IgA 等の性状を免疫化学

的・免疫組織学的に検討し、その意義を追求してきた<sup>5,6)</sup>。肝における IgA の胆汁への輸送機構については、動物とヒトの間に差異が指摘されており、またラット胆道系における IgA 型抗体産生について明らかにされている<sup>7-10)</sup>。

しかし、肝・胆道系に隣接する膵臓の局所免疫機構については、IgA 系を含めてほとんど明らかにされて

いない。その理由としては、膵臓の場合には組織や純粋な膵液の採取等が困難で、検索し難いことがあげられよう。さらに微量試料内のIgAの高感度測定法や分子性状の解析法が十分に確立されていなかったこともよると考えられる。

そこで本研究では、膵臓に分泌型IgA (SIgA) 産生機構が存在するか否かを明らかにするため、内視鏡的膵管内膵液採取法により純粋膵液を採取し、そのIg組成と性状を検索した。また、enzyme immunoassay (EIA) により、膵液中のIgを測定し、とくにIgAとSIgAについて検討し、あわせてその抗体活性も検討した。さらに膵臓のIgA保有細胞およびその分泌像についても免疫組織学的検索を行った。

## 2 研究方法

### 2.1 対 象

対象は慢性膵炎30例(男16例, 女14例: 年齢27歳~85歳)で、日本消化器病学会、慢性膵炎検討委員会案による慢性膵炎の臨床診断基準(1983)<sup>11)</sup>に従い分類すると、I群11例, II群19例であった。また、全例非活動性であった。

これらの例の血清アミラーゼ値は平均402 IU/L (260~502), 尿中アミラーゼ値は平均1599 IU/L (360~2520)を示した。全例において、説明し承諾を得て膵管造影に先立って内視鏡的膵管内膵液採取法を施行した。

### 2.2 膵液採取方法及び保存

純粋膵液を採取するため、内視鏡的膵管内膵液採取法を施行し、確実に主膵管内にカテーテルを挿入し留置した。次にセクレチン(セクレパン®, エーザイ)50単位/分を静脈注射し膵液の分泌を促進した。静注後直ちにカテーテルより、ディスポーザブル注射器を用いて膵液を吸引した。採取した膵液は3~20 mlであった。平均5~10分吸引し、吸引後直ちに膵液1 mlにつき、アプロチニン(トラジロール®, バイエル) (25,000単位/ml)を2 mlの割合で加えよく攪拌し、検索するまで-20℃で冷凍保存した。

### 2.3 膵液中の総胆汁酸の測定

胆汁の混入を判断する目的で、総胆汁酸濃度を測定した。自動分析装置(日立: U-705)を用い、3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase (3 $\alpha$ -HSD)を用いる酵素法<sup>12)</sup>によった。

### 2.4 膵液中の総蛋白濃度の測定

膵液中の総蛋白濃度は、自動分析装置(日立: U-3200, spectrophotometer)を用い280 nmにおける吸

光度(O. D.)を測定した。標準液として既知濃度のウシ血清アルブミン溶液を用いた。

### 2.5 膵液中免疫グロブリンのEIAによる測定

膵液中各クラスIgの測定は既報<sup>13)</sup>に準じたが、ビーズに代えてPINS plateを用いるsolid phase EIA法を設定した。Fig. 1にIgAを測定する場合を模式化して示した。

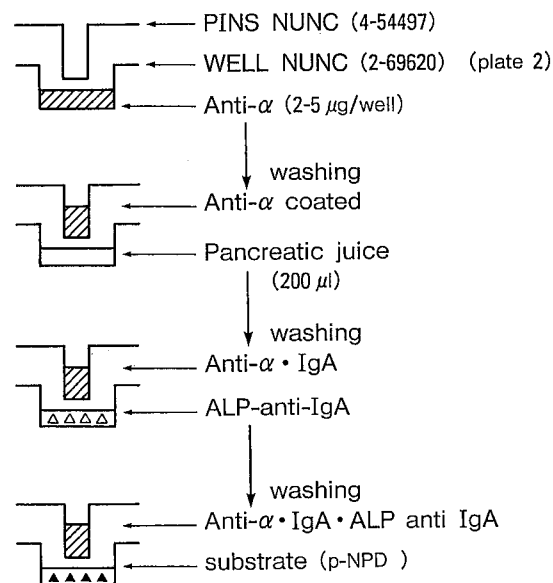


Fig. 1 Determination of IgA in pancreatic juice by enzyme immunoassay.

PINS NUNC (4-54497) is coated with anti-human  $\alpha$  chain antibody. WELL NUNC (2-69620) is a plate for reaction with antibodies, samples and substrate.

1) まず抗ヒト $\alpha$ 鎖抗体(Kirkegaard & Perry Laboratories, [KPL] Inc.)を0.01 M リン酸緩衝食塩液(phosphate buffered saline: PBS, pH 7.4)により1,000倍に希釈し、その200  $\mu$ lを96穴plate(NUNC: 2-69620 以下 plate-2)の各wellに注入した。これにPINS plate(NUNC: 4-54497)を浸し、4℃, 12時間放置し、ピンに抗ヒト $\alpha$ 鎖抗体を固相化した。その後plate-2に1%ウシアルブミン溶液(BSA)を注入し、再びPINS plateを浸して活性基をブロックした。

2) 測定試料として膵液をPBSで3~5倍に希釈し、その200  $\mu$ lを新しいplate-2の各wellに注入した。PINS plateを浸して37℃, 1時間反応させた後、これをPBSで洗浄した。

3) 別のplate-2にPBSで1,000倍に希釈したアル

カリフォスファターゼ標識抗ヒト  $\alpha$  鎖抗体 (KPL 社) を加え, PINS plate と 37°C, 1 時間反応させ PBS で洗浄した。

4) ついで基質として p-nitrophenol phosphate disodium (p-NPD) 溶液 (1 mg/dl) (Sigma 社) 200  $\mu$ l を, さらに別の plate-2 にとり, それに PINS plate を浸して, 室温で 30 分間反応させ, 各 well に 3 M NaOH を 100  $\mu$ l 加えて, 反応を停止させた。その後, 405 nm で吸光度 (O. D.) を測定し, 検量曲線より IgA 濃度を求めた。

また, IgG および IgM 濃度についても同様に測定した。なお, 検体の測定は, すべて duplicate で行った。

## 2・6 膵液中の IgA 分子性状の検討

膵液中の IgA 分子性状を分析するため, 慢性膵炎 3 例について, それぞれの 20 倍濃縮膵液 20  $\mu$ l を high speed liquid chromatography (HLC: 東洋ソーダ社製) を用いて既法<sup>13)</sup> の如く 0.4 ml ずつ採取し分画した。各々の分画中の IgA 濃度は, 2・5 の方法に従い測定し, IgA の溶出曲線を作成した。さらに IgA を polymer 分画および monomer 分画に分け, それぞれの曲線下の面積より両分画の比率を算出した。

## 2・7 膵液中の SIgA の測定

膵液中の SIgA を測定するため慢性膵炎 7 例の膵液について, 2・6 の方法と同様に HLC を用いて polymer 型および monomer 型 IgA に分画し, それぞれの分画をプールして, Minicon (アミコン社) で 20 倍に濃縮し SIgA 測定試料とした。SIgA の測定原理は既報<sup>9)</sup> に準ずるが, 今回は 2・5 と同様の solid phase EIA 法によった。すなわち, PINS plate を用いて抗ヒト secretory component (SC) 抗体 (Bio-Veda 社) を固相化し, ついで plate 2 に測定試料を 200  $\mu$ l 加え, 37°C, 1 時間反応後, PBS で洗浄した。次に, アルカリフォスファターゼ標識抗ヒト  $\alpha$  鎖抗体 (KPL 社) と反応させたのち, p-NPD を基質として発色させ, O. D. 405 nm でそれぞれの吸光度を測定した。SIgA の検量曲線の作成には精製 SIgA (Boehringer Mannheim 社) を用いた。

## 2・8 膵液および血清中の IgA 型 lipopolysaccharide 抗体の測定法

慢性膵炎患者 20 例の膵液および血清中の lipopolysaccharide (LPS) に対する抗体, とくに IgA 型 LPS 抗体の検出を既報<sup>14)</sup> に準じて行った。すなわち, LPS (E. coli 055: B 5, Difco) を PBS で 100 倍に希釈したのち, PINS plate に固相化し, 1% BSA で充分ブロックした。ついで 5 倍濃縮膵液 200  $\mu$ l または, 原血清 200  $\mu$ l と反応させ, 以下は 2・5 の項の操作に従い,

アルカリフォスファターゼ標識抗ヒト  $\alpha$  鎖抗体と反応させ吸光度を測定して IgA 型 LPS 抗体価とした。なお血清 IgA 型 LPS 抗体は対照として正常人 18 例の血清についても測定した。すべての検体について triplicate で測定しその平均値を求めた。

## 2・9 膵臓の IgA 保有細胞と分泌像の免疫組織学的検索

渡辺<sup>15)</sup> の方法に準じて間接免疫ペルオキシダーゼ法を行った。膵組織は膵癌切除時に得られた非癌部膵組織を用いた。0.6% 過酸化水素加メタノールで内因性ペルオキシダーゼ活性を失活させ, 次に切片への二次抗体の非特異的吸着を阻止するため正常ウサギ血清を反応させ, その後, 一次抗体としてウサギ抗ヒト SC 血清あるいはマウス抗ヒト IgA モノクローナル抗体 (フナコシ薬品) を反応させ, ついで二次抗体として, それぞれペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ・イムノグロブリン抗体 (DAKO, Denmark) あるいはペルオキシダーゼ標識ウサギ抗マウス・イムノグロブリン抗体 (DAKO, Denmark) を反応させた。発色は 3・3' diaminobenzidine (東京化成) を用いた。核染色は 0.2% メチルグリーンにより行った。

## 2・10 推計学的方法

平均値の差の検定には Student の t-test を用いた。

# 3 成 績

## 3・1 膵液中の総胆汁酸

胆汁酸が含まれないブランクの値は 3  $\alpha$ -HSDS による酵素法では 10  $\mu$ M 以下であるが, 測定した膵液 1 ml 中の値は, すべて 1  $\mu$ M 以下であり胆汁酸の混入は無視し得ると判断された。

## 3・2 膵液中の総蛋白濃度

慢性膵炎患者 30 例の平均値は, 474  $\pm$  63  $\mu$ g/ml で, 慢性膵炎患者の膵液中には胆汁に比較して少量ではあるが蛋白成分が認められた (Table 1)。

## 3・3 膵液中の免疫グロブリン

### 3・3・1 免疫グロブリンクラス

慢性膵炎患者の膵液中 Ig を, EIA 法で測定し, その成績を Table 1 に示した。

EIA 法により各クラス Ig を測定したが, そのうち IgA の検量曲線を Fig. 2 に示した。IgA は, 100~5,000 ng/ml の範囲で測定可能であった。IgA 100 ng/ml および 2,500 ng/ml の膵液を調整し, 5 回測定した場合の変動係数 (C. V.) はそれぞれ 5.6 および 10.2 であった。また IgG および IgM についても同様な検量曲線が得られた。

**Table 1** Concentration of immunoglobulins and protein in pancreatic juice obtained from patients with chronic pancreatitis.

Cases	Age	Sex	Type*	IgG( $\mu\text{g/ml}$ )	IgA( $\mu\text{g/ml}$ )	IgM( $\mu\text{g/ml}$ )	Protein( $\mu\text{g/ml}$ )
1	42	M	I	0.58	1.80	0.39	580
2	59	F	I	0.66	1.42	0.26	480
3	27	F	I	0.54	0.90	0.20	390
4	60	F	I	0.53	0.65	0.38	400
5	40	F	I	0.59	0.90	0.32	420
6	54	M	I	0.62	1.72	0.27	520
7	36	M	II	0.54	1.00	0.21	540
8	29	F	II	0.53	0.77	0.22	520
9	32	M	II	0.86	1.96	0.44	480
10	70	F	I	0.64	1.26	0.36	550
11	63	M	I	0.58	0.82	0.24	450
12	61	M	I	0.54	0.72	0.28	380
13	52	M	I	0.64	1.60	0.22	480
14	36	F	II	0.66	1.62	0.48	460
15	85	M	II	0.42	0.88	0.18	400
16	75	M	II	0.34	1.04	0.24	390
17	76	F	II	0.22	0.12	0.24	380
18	56	F	II	0.36	0.22	0.22	500
19	72	M	II	0.42	0.72	0.20	520
20	63	M	II	0.38	0.74	0.24	520
21	31	F	II	0.66	0.54	0.18	520
22	50	M	II	0.38	0.82	0.44	480
23	57	F	II	0.28	1.24	0.24	380
24	46	F	II	0.16	1.32	0.26	420
25	39	F	II	0.28	0.64	0.18	460
26	42	M	II	0.48	1.24	0.24	480
27	52	M	II	0.28	1.82	0.44	520
28	67	M	II	0.54	0.96	0.32	460
29	83	F	II	0.66	1.24	0.48	560
30	38	M	I	0.72	1.20	0.56	600
Mean $\pm$ S. D.				0.50 $\pm$ 0.16	1.06 $\pm$ 0.46	0.30 $\pm$ 0.10	474 $\pm$ 63

Concentrations of immunoglobulins were determined by enzyme immunoassay (EIA)

\* Type: Type of chronic pancreatitis

慢性膵炎患者 30 例の膵液中の免疫グロブリン値を EIA 法により検討すると、平均値で IgG は  $0.50 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ , IgA  $1.06 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$ , IgM  $0.30 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$  であった。膵液中では IgA が最も濃度が高い免疫グロブリンであった。以上の成績より膵液中の Ig 組成も他の分泌液と同様に IgA が主要な成分であることが明らかにされた。

### 3・3・2 慢性膵炎各型の比較

日本消化器病学会, 慢性膵炎検討委員会案による慢性膵炎の臨床診断基準(1983)<sup>11)</sup>に従い, 対象を I 群 11 例, II 群 19 例に分類し, 膵液中の各クラス Ig を測定し

比較検討した (Table 2)。

I 型の慢性膵炎では各クラス Ig 値は, 平均値で IgG  $0.60 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ , IgA  $1.18 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$ , IgM  $0.32 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$  であり, また II 型の慢性膵炎では各クラス Ig の平均値は IgG  $0.44 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ , IgA  $0.99 \pm 0.49 \mu\text{g/ml}$ , IgM  $0.29 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$  であった。すなわち慢性膵炎の I 型が II 型に比べて各クラス Ig がやや高値を示したが, 有意差はみられなかった。

### 3・4 膵液中の IgA 分子性状

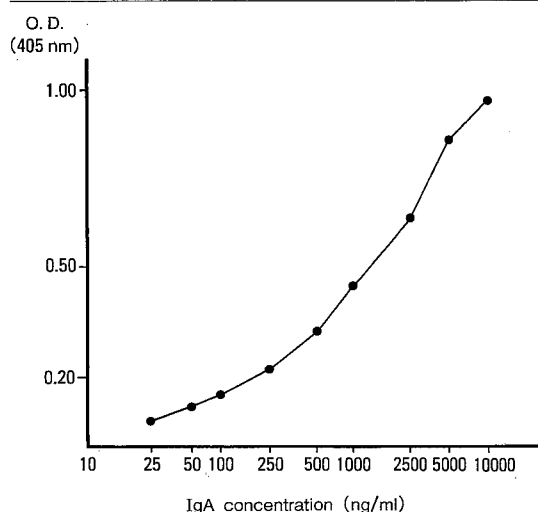
慢性膵炎 3 例の膵液を HLC で分画し, 各分画の

**Table 2** Comparison between concentrations of immunoglobulins in pancreatic juice from patients with chronic pancreatitis type I and II.

Type	Number of cases	IgG( $\mu\text{g/ml}$ )	IgA( $\mu\text{g/ml}$ )	IgM( $\mu\text{g/ml}$ )	protein( $\mu\text{g/ml}$ )
I	11	$0.60 \pm 0.16$	$1.18 \pm 0.41$	$0.32 \pm 0.10$	$477 \pm 77$
II	19	$0.44 \pm 0.18$	$0.99 \pm 0.49$	$0.29 \pm 0.11$	$473 \pm 56$

**Table 3** Composition of polymeric and monomeric IgAs in pancreatic juice obtained from patients with chronic pancreatitis

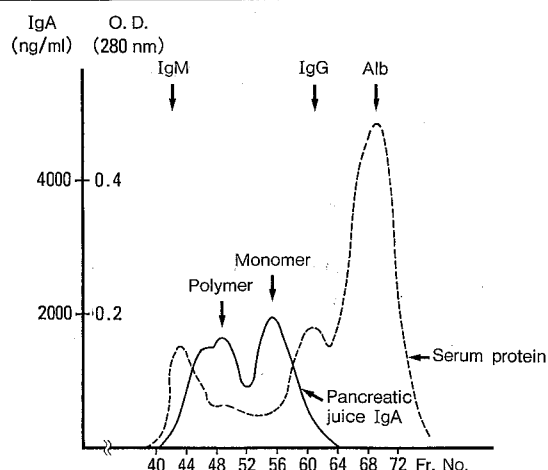
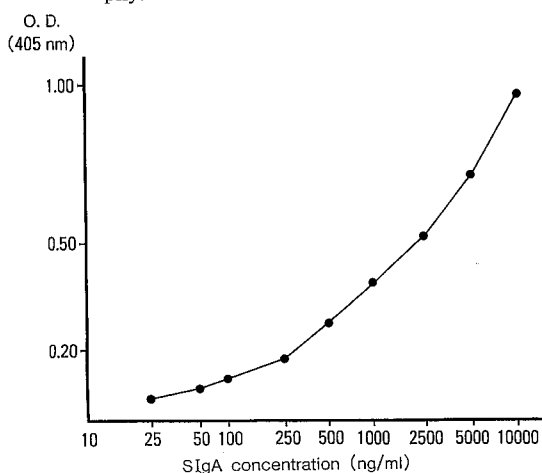
	IgA polymer(%)	IgA monomer(%)	polymer : monomer
Case 3	52.9	47.1	1.12 : 1
Case 9	53.7	46.3	1.16 : 1
Case 26	57.0	43.0	1.32 : 1
Mean $\pm$ S. D.	$54.5 \pm 2.2$	$45.5 \pm 2.2$	1.18 : 1

**Fig. 2** Calibration curve of IgA by enzyme immunoassay.

IgA 濃度を EIA 法で測定した。その代表的分画像を Fig. 3 に示した。図中の矢印は正常人血清の IgM, IgG および albumin の溶出部分を示す。polymer 型 IgA は、void volume より遅れて溶出され、二峰性を示す傾向がみられた。また、monomer 型 IgA は、IgG より少し前の位置に溶出された。慢性膵炎 3 例の膵液中の IgA の平均値は Table 3 に示すように、polymer が monomer より多く、その比は 1.18 : 1 であった。膵液では血清とは明らかに異なり、polymer 型の占める比率が大きかった。

### 3.5 膵液中の SIgA の測定値

膵炎の膵液中の SIgA の EIA 法による検量曲線を Fig. 4 に示した。SIgA は 250~10,000 ng/ml の範囲で

**Fig. 3** Elution pattern of IgA in pancreatic juice obtained from a patient (case 6) with chronic pancreatitis by high speed liquid chromatography.**Fig. 4** Calibration curve of SIgA by enzyme immunoassay.

**Table 4** Concentration of secretory IgA (SIgA) in polymeric and monomeric IgA fractions (pIgA-Fr, mIgA-Fr) of pancreatic juice obtained from patients with chronic pancreatitis.

Case	Age	Sex	IgA( $\mu$ g/ml)*	SIgA( $\mu$ g/ml)*	
				in pIgA-Fr	in mIgA-Fr
10	70	F*	1.26	0.30	0
11	63	M**	0.82	0.11	0
12	61	M	0.72	0.01	0
13	52	M	1.60	0.77	0
14	36	F	1.62	0.44	0.01
22	50	M	0.82	0.30	0.01
27	52	M	1.82	0.88	0.03
Mean $\pm$ S. D.			1.24 $\pm$ 0.45	0.40 $\pm$ 0.32	0.005 $\pm$ 0.5

F\*: female, M\*\*: male

測定可能であった。

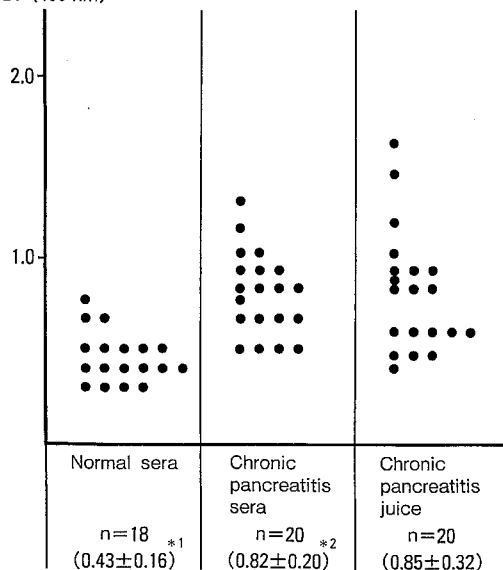
HLCにより, polymer分画およびmonomer分画に分け, それぞれのSIgA濃度を測定すると, polymer分画中では平均 $0.40\pm0.32\mu$ g/mlであり, 一方monomer分画中では7例中3例にのみ検出され, 平均 $0.005\mu$ g/mlと極めて低値であった (Table 4)。

### 3.6 IgA型LPS抗体

#### 3.6.1 唾液及び血清のIgA型LPS抗体価

慢性膵炎の唾液中におけるIgA型LPS抗体価はFig. 5に示すように, 平均O. D.  $0.85\pm0.32$ であった。

O. D. (405 nm)

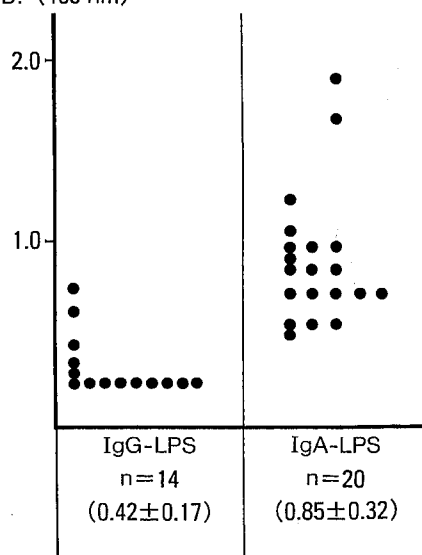


\*1<\*2, P<0.01

**Fig. 5** Levels of IgA antibody to LPS in sera and pancreatic juice from normal controls and patients with chronic pancreatitis.

また, 血清中のIgA型LPS抗体価は, 正常人の平均O. D.  $0.43\pm0.16$ に比較して, 慢性膵炎患者では平均O. D.  $0.82\pm0.20$ と有意( $p<0.01$ )の高値を示した。これと, 唾液中のIgA型LPS抗体価を直接比較することはできないが, O. D. 上ほぼ同レベルを示した。従って, 血清および唾液のIgA濃度からみれば, 唾液には相対的に多量のIgA型LPS抗体が存在すると考えられていた。一方, 唾液中のIgG型LPS抗体価についても同様に検討を行うと, Fig. 6に示すように平均O. D.  $0.42\pm0.17$ であり, 明らかにIgA型LPS抗体価の方

O. D. (405 nm)



**Fig. 6** Levels of IgA and IgG antibodies to LPS in pancreatic juice obtained from patients with chronic pancreatitis.

が高い値を示した。

そこで慢性膵炎 20 例について、膵液中 IgA 濃度と IgA 型 LPS 抗体価の関係をみたが、有意な相関関係は認められなかった ( $r=0.03$ )。

### 3・6・2 膵液及び血清 IgA 型 LPS 抗体価と臨床経過

慢性膵炎患者 4 例について、その臨床経過とともに IgA 型 LPS 抗体価を示した (Fig. 7)。この中の 2 例 (case 6 および 15) において、経過中に胆道感染症を起こし、一過性に血清アミラーゼの上昇を認めたが、それとはほぼ同時期に膵液中 IgA 型 LPS 抗体価の上昇を認めた。また、膵液を再三採取することは困難なため、血清中の IgA 型 LPS 抗体価を経時的に測定したところ、その明らかな上昇を認めた。他の 2 例 (case 16 および 21) においても下痢、腹痛を伴う膵炎の急性増悪を契機に血清アミラーゼの一過性上昇を認め、膵液 IgA 型 LPS 抗体価の明らかな上昇を認めた。その上昇は血清 IgA 型 LPS 抗体より著明で、より長期にわたり高値を持続する傾向を認めた。

### 3・7 膵臓の IgA 保有細胞と分泌性成分の免疫組織学的検索

膵臓の IgA 保有細胞と分泌性成分 (SC) の免疫組織学的検索では、SC は Fig. 8A に示すように一部の膵管腔に面して陽性反応がみられ、分泌像を示している

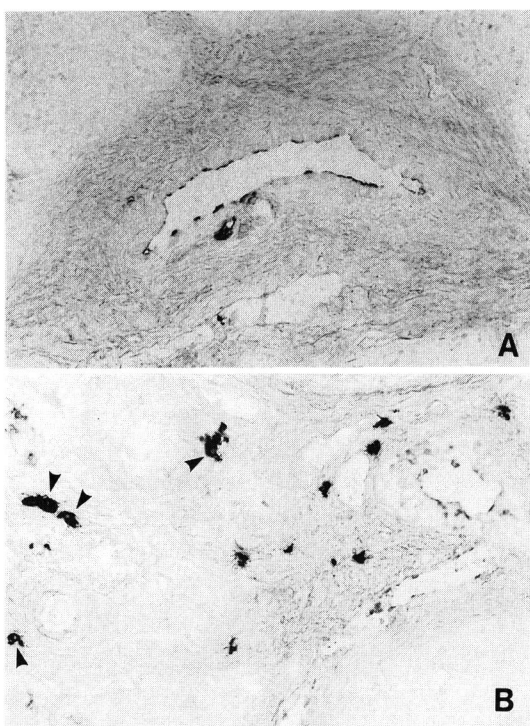


Fig. 8 Immunohistochemical localization of secretory component (A) and IgA (B) on pancreatic tissue (magnification,  $\times 235$ ).

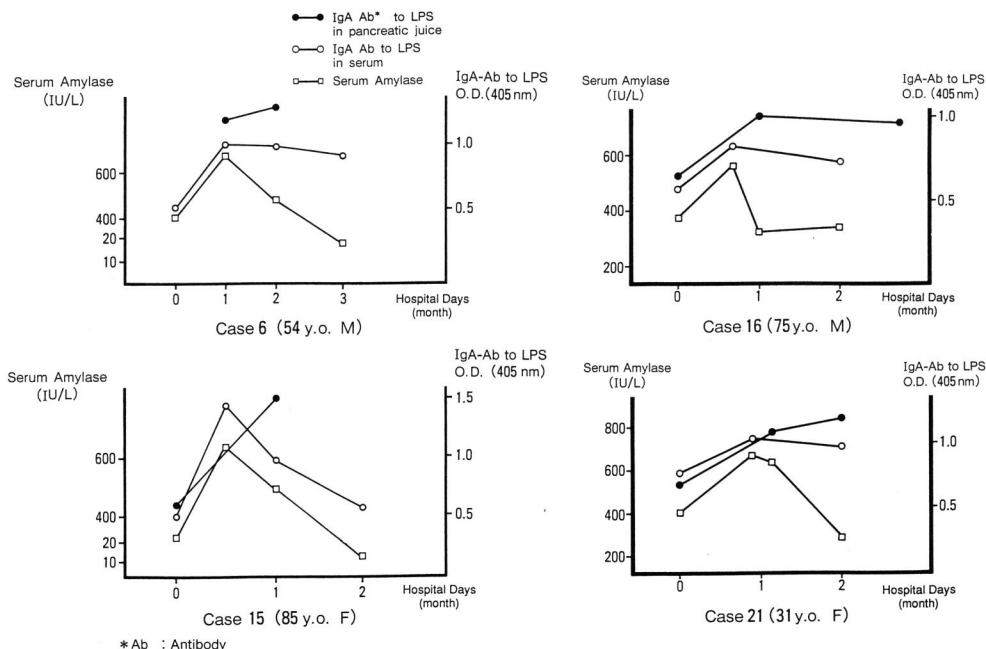


Fig. 7 Changes in levels of IgA antibody to LPS in pancreatic juice and in serum during clinical course of patients with chronic pancreatitis.

と考えられた。この Fig. 8 では明らかではないが、膵管上皮細胞質および上皮の基底膜側に陽性所見を認める場合があった。

また、Fig. 8 B に示すように、IgA は主として膵管内腔面に陽性反応を認めた。Fig. 8 A と合わせて考えると、膵管内腔面の陽性反応は SIgA の分泌像であると判断される。

さらに、矢印で示すように膵管周辺の間質に IgA 陽性細胞の集簇が認められた。

#### 4 考 察

本研究においては、慢性膵炎患者の純粋膵液を採取し、その Ig の組成を分析したが、他の外分泌液と同様に IgA が主要な Ig であることが明らかにされた。その濃度は平均  $1.06 \mu\text{g/ml}$  と低い値を示した。また膵液 IgA の分子性状は pIgA と mIgA の比が 1.18 : 1 と、血清におけるその比 0.25 : 1 に比較して著明に高く、pIgA が多いことを確認した。また、膵液 IgA の少なくとも約 30% は SIgA であると推定された (Table 4)。さらに一部の症例の膵液 IgA は抗 LPS 抗体活性を有することが証明された。

各種外分泌液中の IgA に関しては既に多くの報告があり、局所免疫の主要な effector としての機能が明らかにされている<sup>14,16,17</sup>。

重要な外分泌機能を営む膵臓について、これまで膵液 IgA に関する報告<sup>18-21</sup>) をみると、パンクレオザイミン・セクレチン (P-S) 試験に際してえられた膵液として十二指腸液を含む試料、あるいは経皮胆管ドレナージ、膵管瘻、手術時などに採取された試料が用いられている。いずれも胆汁の混入は避け難く、またその分析数も少ない。本研究では内視鏡的に主膵管内にカテーテルを挿入し、セクレチンを負荷して慢性膵炎 30 例から膵液を採取したが、いずれも胆汁酸の混入が認められず、純粋膵液であることが確認された。またこれらの症例についてその後の臨床経過を観察したが、自・他覚所見の増悪は認められず、膵液採取による悪影響は認められなかった。

膵液中の Ig 組成は IgG : IgA : IgM が 1.0 : 2.1 : 0.6 であり、他の分泌液と同様に IgA が主要な Ig であることが明らかにされたが、IgA 濃度は平均  $1.06 \mu\text{g/ml}$  と唾液、腸液および胆汁など他の消化器の外分泌液に比べて低濃度であり<sup>3,6,22</sup>)、とくに胆汁に比較して約 1/10 以下の濃度である。それゆえ膵液中 IgA がどの程度防御機構のうえで意義を有するかについては疑問に思われた。しかし膵液 Ig 組成は血清 Ig 組成とは明らかに

異なっており、血清 Ig の漏出のみによるのではなく、膵臓局所で IgA が産生され分泌されていることが強く示唆された。

また画像診断上慢性膵炎としての特徴を備えている I 型と、それが判然としない II 型に分けて検討したが膵液中の蛋白質および各 Ig の濃度について、両群間に差異を見出せなかった。また、膵液 IgA 濃度とアルコール歴、胆石、下痢、血清アミラーゼ値、空腹時血糖値等、慢性膵炎との病態の間には明らかな関連性を指摘し得なかった。これに対して手術時に得られた急性膵炎患者の膵液では、Ig 組成は IgG が主体で血清に類似していた。また IgA 濃度も平均  $2.20 \mu\text{g/ml}$  であり、今回の慢性膵炎膵液に比較して著明に高く、急性膵炎では炎症による血清成分の漏出が大きな影響をもつと考えられた<sup>23</sup>。

また、今回は健康人膵液について検討していないが、Soto ら<sup>19,20</sup>) は正常人では IgA の膵液中への能動的分泌は認めがたく、慢性膵炎において膵液 IgA の平均値に有意差はないものの、増加する傾向があることを報告している。

膵液 IgA の分子性状を分析すると、血清 IgA とは異なり polymer 型と monomer 型の比は 1.18 : 1 であり、polymer 型が約 54% を占めることになる。これは胆汁 IgA の性状<sup>6,8</sup>) と比較的類似していた。ヒトの胆汁 IgA は胆道上皮の SC を介して分泌される SIgA<sup>24</sup>) と肝細胞の asialoglycoprotein receptor を介して分泌される polymer 型<sup>25</sup>)、一部 monomer 型 IgA の胆汁中への輸送が知られている<sup>24</sup>)。胃液や唾液ではほとんど polymer 型で占められており<sup>26</sup>)、膵液ではそれらよりも polymer 型の比率は低く、胆汁に類似しているといえよう。

正常の消化管粘膜は monomer 型 IgA を分泌しないと言われている<sup>8,27</sup>)。膵液中に monomer 型 IgA が検出される機序については、血清からの浸出あるいは漏出も完全には否定は出来ないが、現時点では不明である。この点慢性膵炎による浸出やセクレチン刺激による膵液分泌亢進の影響によるものかもしれない。

さらに膵液 IgA に SIgA が存在するか否かを抗 SC 抗体を用いて特異的に測定した。すなわち、膵液 IgA のうち pIgA が約 54% を占め、また Table 4 の結果から膵液 IgA のうち SIgA が約 32% を占めると推算された。ここで IgA と SIgA の測定系が標準試料を含めて異なるため、両者の正確な絶対量の比較は困難であるが、SIgA のほとんどは polymer 型 IgA 分画に検出され、SIgA は polymer 型 IgA の約 60% を占めるものと推定される。



膵臓に局所免疫機構が存在することは免疫組織学的所見からも推測されている。

Saito *et al.*<sup>28)</sup> は酵素抗体法により、IgA を膵液、膵管上皮および間質に、SC を膵液および膵管上皮に認め、膵臓にも SIgA の輸送機構が存在するとしている。本研究においても、免疫組織学的にそれを支持する結果が得られており、膵液には局所産生性の SIgA が存在することは確実であると考えられる。

しかし膵の SIgA がどれほど局所防御機構に役割を演じているかについては不明である。従来膵液中の抗菌活性をもつ防御因子としては、諸種プロテアーゼ、Ig、補体のほかに非免疫性因子として耐熱性の低分子物質<sup>29)</sup>があると報告されている。これは *E. coli*, サルモネラ属、シゲラ属等に抗菌作用があり、膵の上行性感染防御に主要な役割を發揮しており、また十二指腸の常在細菌叢のホメオスターシスの維持にも影響を及ぼしているといわれている。しかし慢性膵炎においてこの因子がどのように変化し、それに対して免疫性因子がどれほどまでに重要性を増してくるのか等については不明のままである。

一方、胆汁中の SIgA は腸管の免疫防御機能を補強すると言われており<sup>30)</sup>、十二指腸乳頭附近において抗体機能を發揮し、膵の上行性感染を防止するのに役立っているかもしれない。

一方、膵液中に認められる IgA が何らかの抗体活性を有するか否かは興味深い。

そこで *E. coli* の菌体成分である LPS (055) を用いて膵液中の抗体の測定を試みた。その結果、IgA 型 LPS 抗体が IgG 型 LPS 抗体よりも抗体価が高いという成績を得た。また血清中同抗体よりも、単位 IgA 濃度あたりにしてみると、膵液中の抗体は多量であると推測された。ただし今回は正常人純粋膵液について測定する機会がなかったので、これを比較して病的意義について議論することはできなかった。

しかし少数例ではあるが、経過に伴う IgA 型 LPS 抗体の変動を観察したところ、胆道感染症を合併し、血清アミラーゼが一過性に上昇するのと平行して、膵液中の IgA 型 LPS 抗体が上昇することを認めた。このことは、膵局所においても LPS に対する IgA 抗体の分泌が行われていることを強く示唆する知見で興味深い。坂内<sup>10)</sup> らはラット胆管を horseradish peroxidase (HRP) で感作すると、胆汁中に SIgA 型 HRP 抗体が局所で産生、分泌されることを報告している。また膵液中 IgA 型 LPS 抗体の出現については、胆管や十二指腸など他の部位の粘膜固有層のリンパ球が LPS で感作され、膵

管周囲に homing し、IgA 産生細胞に分化して抗体産生を営む可能性もあろう<sup>9, 31)</sup>。また、膵管上皮は通常 LPS 抗原に遭遇することは稀であると考えられるが、かりに胆汁や腸内容の膵管への流入があった場合には、対応抗原に対して homing しているリンパ球が迅速に局所免疫応答を起こすことも推測される。

ところで、血中 IgA 型 LPS 抗体価についても経時的に測定したところ、血清アミラーゼ値の消長とほぼ平行して変動し、膵炎の増悪をよく反映していると考えられた。この点はさらに症例を増して検討しなければならないが、膵液は頻回に採取するわけにいかないので、血清中の抗体価を測定することは、臨床応用上の意義が大きいものといえよう。

いずれにしても、本研究により膵液中にも局所産生性 IgA 系が存在し、その一部は抗体活性を有することが明らかになった。しかし、これらの抗体が局所防御機構にいかに関与しているかについては不明であり、血清抗体との関係についても今後さらに検討を要する。

## 5 結 論

内視鏡的膵管内膵液採取法によって、慢性膵炎患者より純粋膵液を採取した。PINS plate を用いる EIA 法により、膵液中 Ig を各クラス別に測定し、さらにその抗体活性を検討して以下の結論を得た。

- (1) 慢性膵炎の膵液中には、少量ではあるが Ig が検出され、IgA が主要成分であった。すなわち、その平均値は IgA 1.06  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、IgG 0.50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、IgM 0.30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、であった。
- (2) IgA : IgG : IgM の組成比は 2.1 : 1 : 0.6 であり、唾液、胃液、胆汁のそれとは異なっていた。
- (3) 慢性膵炎患者膵液中の IgA の分子性状を検討し、polymer 型 IgA が約 55% と monomer 型よりやや優位であった。また polymer 型 IgA 分画中に SIgA の存在が証明され、その約 60% を占めるものと推測された。
- (4) 免疫組織学的に、膵管上皮の管腔側に SC と IgA の存在が認められ、膵管腔への SC mediated transport による SIgA の分泌機構があると考えられた。
- (5) 慢性膵炎患者の膵液中には、IgA 型 LPS 抗体活性が認められた。興味あることには、一部の症例では、胆道感染症に伴い、その IgA 型 LPS 抗体価の上昇が認められた。また、その際、血中 IgA 型 LPS 抗体価の上昇も認められ、臨床経過との関連性が推測された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲いただいた札幌医科大学内科学第1講座谷内 昭教授、研究に際して御指導いただいた本講座杉山敏郎博士、使徒ルカ会手稲ルカ病院赤保内良和博士に感謝致します。

## 文 献

1. Tomasi, T. B. and Bienenstock, J.: Secretory immunoglobulins. *Adv. Immunol.* **9**, 1-96 (1968)
2. Mestecky, J. and McGhee, J. R.: Immunoglobulin A (IgA); Molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. *Adv. Immunol.* **40**, 153-245 (1987)
3. 谷内 昭, 赤保内 良和, 前田 修一: ヒト分泌型免疫グロブリン系の分布と機能. 日本臨床 1984年春増刊—臨床免疫 Handbook, 175-186 (1984)
4. 西尾 彰, 熊本 悦明: 尿中分泌型IgAに関する研究 I. 各種感染症における分泌型IgAの検討. *日泌尿会誌* **72**, 810-827 (1980)
5. 鈴木 隆: 胃液および血清壁細胞抗体の対比研究. *札幌医誌* **51**, 1-14 (1982)
6. 大嶋哲夫, 嵐 方之, 吉崎榮泰, 阿部 敬, 赤保内良和, 谷内 昭: 胆汁IgAに関する研究. *日消誌* **80**, 1461-1467 (1983)
7. Lemaitre-Coelho, I., Altamirans, G. A., Barranco-Alcosta, C., Meykens, R. and Vaerman, J. P.: In vivo experiments involving secretory component in the rat hepatic transfer of polymorphic IgA from blood into bile. *Immunology* **43**, 261-270 (1981)
8. Delacroix, D. L., Hodgson, H. J. F., McPharson, A., Dive, C. and Vaerman, J. P.: Selective transport of polymeric IgA in bile. *J. Clin. Invest.* **70**, 234-241 (1982)
9. Nagura, H., Tsusumi, Y., Hasegawa, H., Watanabe, K., Nakane, P. K. and Brown, W. R.: IgA plasma cells in biliary mucosa; a likely source of locally synthesized IgA in human hepatic bile. *Clin. Exp. Immunol.* **54**, 671-680 (1983)
10. 坂内文男, 吉田 豊, 服部淳夫: 肝胆道系における局所免疫機構の解析—HPRによる総胆管感作ラットでの検討—. *札幌医誌* **57**, 485-494 (1988)
11. 日本消化器病学会, 慢性肝炎検討委員会案: 慢性肝炎の臨床診断基準 1-65. 医学図書出版株式会社, 東京, (1983)
12. Mashige, F., Tanaka, N., Maki, A., Kamei, S. and Yamanaka, M.: Direct spectrophotometry of total bile acids in serum. *Clin. Chem.* **27**, 1352-1356 (1981).
13. 嵐 方之: 血清IgAおよびリンパ球培養上清中IgAのHeterogeneityの解析—とくに血清IgAの産生起源について—. *札幌医誌* **51**, 207-224 (1982)
14. 松谷茂幸, 赤保内良和: 慢性肝炎における高免疫グロブリン血症, とくに高IgA血症の機序に関する研究—外来性抗原に対する抗体産生面から—. *札幌医誌* **51**, 301-317 (1982)
15. 渡辺慶一: 酵素抗体法. 理論・手技解説とその応用, 33-39. 学際企画, 東京 (1984)
16. Brandtzaeg, P. and Baklien, K.: Immunohistochemical studies of formation and epithelial transport of immunoglobulin in normal and disease human intestinal mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* **11**, (Suppl. 36), 1-45 (1976)
17. Tomasi, T. B., Jr: Secretory immunoglobulins. *New Engl. J. Med.* **287**, 500-506 (1972)
18. Brasher, G. W., Dyck, W. P., Hall, F. F. and Spiekerman, A. M.: Immunoglobulin characterization of human pancreatic fluids. *Dig. Dis. Sci.* **20**, 454-459 (1975)
19. Soto, J. M., Aufses, A. H. and Dreling, D. A.: The pancreas and immunoglobulins. I. Immunoglobulin levels in the pancreatic secretion of patient with normal function; preliminary studies. *Am. J. Gastroenterol.* **67**, 345-347 (1977)
20. Soto, J. M., Aufses, A. H. and Dreling, D. A.: The pancreas and immunoglobulins. II. Immunoglobulin levels in the pancreatic secretion of patient with chronic pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* **67**, 561-564 (1977)
21. 洲脇謹一郎: 膵疾患における十二指腸中の secretory component および免疫グロブリンの分泌動態について. *日消誌* **81**, 1243-1250 (1984)
22. Delacroix, D. L., Dive, C., Rambaud, J. C. and Vaerman, J. P.: IgA subclass in various secretions and serum. *Immunology* **47**, 383-385 (1982)
23. 平根敏光, 森 正光, 阿部 敬, 赤保内良和, 谷内昭: ヒト胆汁中の免疫グロブリン. *消化器と免疫* **18**, 199-202 (1987)
24. Nagura, H., Smith, P. D., Nakane, P. K. and Brown, W. R.: IgA in bile and liver. *J. Immunol.* **126**, 587-595 (1985)
25. Stockert, R. J., Kressner, M. S., Collins, J. C., Sternliet, I. and Morell, A. G.: IgA interaction with the asialoglycoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 6229-6231 (1982)
26. 赤保内良和: IgAの分子性状とその代謝機構. 臨

床免疫 18, 205-218 (1986)

27. Kubagawa, H., Bertoli, L. F. Barton, J. C., Koopman, W. J., Mestecky, J. and Cooper, M. D.: Analysis of paraprotein transport into the saliva by using anti-idiotypic antibodies. **J. Immunol.** **138**, 435-439 (1987)
28. Saito, H., Kasajima, T. and Nagura, H.: An immunocytochemical study on secretory mechanism of IgA in human pancreas. **Acta Pathol. Jpn.** **35**, 87-101 (1985)
29. Rubinstein, E., Mark, Z., Haspel, J., Ben-Ari, G., Dreznik, Z., Mirelman, D. and Tadmor, A.: Antibacterial activity of the pancreatic fluid. **Gastroenterology** **88**, 927-932 (1985)
30. Vearman, J. P., Lemaitre-Coelho, I. and Jackson, G. D. F.: The secretory IgA system and the liver. **Ric. Clin. Lab.** **8** (Suppl. 1), 281-286 (1978)
31. McDermott, M. R. and Bienenstock, J.: Evidence for a common mucosal immunologic system. I. Migration of B immunoblasts into intestinal, respiratory and genital tissues. **J. Immunol.** **122**, 1892-1898 (1979)

---

別冊請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第1講座 平根敏光